

ご使用に際しては、本添付文書をよくお読みください。

フェニトインキット
(分類コード番号:30402000)

セディア-フェニトインII

全般的な注意

1. 本品は、体外診断用医薬品ですので、それ以外の目的には使用できません。
2. 測定結果に基づく臨床判断は、臨床症状や他の検査結果などと合わせて担当医師が総合的に判断してください。
3. この添付文書に記載された使用方法に従って使用してください。記載された使用方法及び使用目的以外での使用については、測定値の信頼性を保証しかねます。
4. 試薬が誤って目や口に入った場合には、水で十分に洗い流す等の応急処置を行い、必要があれば医師の手当て等を受けてください。
5. 各種自動分析装置でのご使用にあたっては、必ず測定装置の取扱説明書をよくお読みください。なお、別途、各機種別のパラメーターを用意しておりますので、必要な場合には弊社までご連絡ください。
6. 本品を使用する際は精度管理を実施し、精度が確保されていることを確認してください。

形状・構造等(キットの構成)

本キットの構成試薬及び主な成分は以下のとおりです。

構成試薬名	成分・分量(1容量中の分量)
EA試薬	: β -ガラクトシダーゼ由来相補反応受容体(EA) 3.08 $\pm$ 0.15mg/18mL用
EA試薬溶解液	: マウス抗フェニトインモノクローナル抗体 1.12 $\pm$ 0.45mg/18mL
ED試薬	: β -ガラクトシダーゼ由来相補反応供与体-フェニトイン結合体(ED-フェニトイン結合体) 0.45 $\pm$ 0.09 μ g/18mL用 クロロフェノールレッド- β -D-ガラクトピラノシドナトリウム 29.5 $\pm$ 2.95mg/18mL用
ED試薬溶解液	: 2-(N-モルフォリノ)エタンスルホン酸 87.8mg/18mL

使用目的

血清又は血漿中のフェニトイン濃度の測定

フェニトイン(ジフェニルヒダントイン)は、てんかん治療薬の一つであり、特に大発作(大部分は運動性)、皮質焦点性発作、側頭葉てんかんの抗痙攣薬として最も幅広く処方されています³⁾。フェニトインは一般的に経口剤として使用され、小腸においてはほぼ完全に(85~95%)吸収されます⁴⁾。循環血中のフェニトインの約87~94%が血漿蛋白に結合していますが、薬理学的に不活性型であり、非結合型(遊離型)フェニトインが薬理学的な活性を有します。他剤との併用や合併症を伴う場合は、遊離型フェニトインの濃度が上昇し、毒性の発現を引き起こします^{4),5)}。70~80%のフェニトインは、肝臓で水酸基が付加され、不活性型の代謝物、5-ヒドロキシフェニル-5-フェニルヒダントイン(HPPH)に代謝さ

れます^{4),6)}。HPPHの90%がグルクロン酸と抱合したパラヒドロキシフェニルヒダントインとして尿中に排泄され、約5%が抱合されないで排泄されます⁴⁾。

最大発作を抑制するためのフェニトインの治療有効濃度は、成人血清で10~20 μ g/mL^{4),6)~10)}、小児血清で6~14 μ g/mL⁴⁾であると報告されています。治療有効濃度範囲が狭いこと及び薬物吸収、代謝、クリアランスに大きな個人差があることから^{3),6)~8)}、血清中のフェニトイン濃度をモニタリングすることは、治療におけるフェニトインの用量調節に必要不可欠です^{3),7)~8)}。フェニトインの毒性は用量依存的であり、主に中枢神経系に影響を及ぼします。主な毒性症状として、眼振、運動失調、眠気、複視、視覚障害、そして痙攣さえも起きます^{10),11)}。中枢神経系以外の毒性として、長期のフェニトイン治療によって、歯肉増殖¹²⁾、貧血¹³⁾、骨軟化症¹⁴⁾が起こることがあります。また、必ずしも用量依存的でない毒性として、発疹、リンパ腺症、肝炎、血液関連疾患、全身性エリテマトーデス等が報告されています¹⁰⁾。

フェニトインの血中濃度をモニタリングすることは、毒性症状の発現を避けて最良の治療効果を得ることができる用量の調節に有用な手段です。

測定原理

1. 測定原理

Fowler等¹⁾は、酵素 β -ガラクトシダーゼを遺伝子工学的に2つの部分に分割したところ、水溶液中でこれらが自然に会合して、再び酵素活性を持つようになることを見いだしました。Henderson等²⁾は、この原理を酵素免疫測定法に応用し、セディア法(CEDIA: Cloned Enzyme Donor Immunoassay)を開発しました。「セディア-フェニトインII」は、DNA組換え技術を利用した独特のホモジニアスなEIAであるセディア(CEDIA)法に基づいています。

DNA組換え操作によって酵素 β -ガラクトシダーゼは2種類の全く不活性な β -ガラクトシダーゼ由来相補反応受容体(EA)と β -ガラクトシダーゼ由来相補反応供与体(ED)と呼ばれる断片に二分されます。これらの断片は水溶液中で自然に会合して触媒的に活性を有する酵素 β -ガラクトシダーゼを形成します。

β -ガラクトシダーゼ由来相補反応受容体(EA)との相補性を保持するように測定対象物質であるフェニトインを β -ガラクトシダーゼ由来相補反応供与体(ED)に結合させると、これらも β -ガラクトシダーゼ由来相補反応受容体(EA)と自然に会合し活性を持つ酵素を形成することができます。しかし、この β -ガラクトシダーゼ由来相補反応供与体-フェニトイン結合体(ED-フェニトイン結合体)中のフェニトインに抗フェニトイン抗体が結合すると、 β -ガラクトシダーゼ由来相補反応受容体(EA)との会合が妨げられ、活性を持つ酵素が再形成されなくなります。

抗フェニトイン抗体に対して、検体中のフェニトインと β -ガラクトシダーゼ由来相補反応供与体-フェニトイン結合体(ED-フェニトイン結合体)は競合的に反応します。その結果、検体中のフェニトインの濃度に比例して β -ガラクトシダーゼの形成量が増加します。

本法ではこの酵素活性を発色基質クロロフェノールレッド-β-D-ガラクトピラノシドの加水分解物として比色測定し、フェニトインの濃度を求めます。

2. 特長

「セディアーフェニトインⅡ」は、血清又は血漿中のフェニトイン濃度を検体の前処理を行うことなく迅速に、かつ簡便に測定するものであり、検査室で使用されている自動分析装置に応用できるホモジニアス酵素免疫測定法に基づいた測定キットです。

「セディアーフェニトインⅡ」は、以下の特長を持っています。

- 1) 放射性物質を使用せず、取扱施設や廃棄処理の規制を受けません。
- 2) B/F分離の過程を必要とせず、蛋白処理や分離等の検体の前処理操作も不要で、測定が簡便です。
- 3) 専用の測定装置を必要とせず、検査室で日常使用されている自動分析装置への応用が可能です。
- 4) 検量線が直線であるため、データ処理が簡単です。

操作上の注意*

1. 測定試料の性質、採取法

1) 測定試料

血清又は血漿が使用できます。

2) 測定試料の保存について

血清(漿)分離後、当日中に測定できない場合は次のように保存し、凍結融解の繰り返しは避けてください。なお、測定に際しては、検体を室内温度(15～30℃)に戻してから測定してください。

24時間以内に測定する場合 2～8℃

4週間以内に測定する場合 -20℃以下

3) 試液や検体は泡立てないように注意してください。

4) 強く濁った検体は、遠沈し、澄明にしてから使用してください。

2. 妨害物質

1) ビリルビン66mg/dL、ヘモグロビン1,000mg/dL、トリグリセライド1,200mg/dL、蛋白質12.4g/dLまで測定値に影響はありません。

2) 大腸菌β-ガラクトシダーゼに対する抗体をもつ患者の頻度はきわめて低いですが、検体中にその抗体がある場合、フェニトイン異常高値を示す可能性があります。

3) マウス抗体を使用しているため、ヒト抗マウス抗体が検体中にある場合、みかけのフェニトイン測定値が高くなります。

4) 交差反応性

フェニトインの類似物質及び各種の薬物の交差反応性を、次の表にまとめました。

対象物質	交差反応性(%)
5-ヒドロキシフェニル-5-フェニルヒダントイン	1.8
5-ヒドロキシフェニル-5-フェニルヒダントイン-グルクロナイド	0.0
ヒダントイン	0.0
アモバルビタール	0.1
アミトリプチリン	0.3
カルバマゼピン	0.2
カルバマゼピン-10,11-エポキシド	0.1

クロラゼパ酸	0.9
クロルジアゼポキシド	0.1
クロルプロマジン	0.4
ジアゼパム	1.5
エトスクシミド	0.0
グルテチミド	4.7
イミプラミン	0.4
メフォバルビタール	1.1
2-フェニル-2-エチルマロンアミド	0.0
オキサプロジン	2.6
ペントバルビタール	0.0
フェノバルビタール	0.0
p-ヒドロキシフェノバルビタール	0.2
プロメタジン	1.6
セコバルビタール	0.0
バルプロ酸	0.0
プリミドン	0.3
5-(p-メチルフェニル)-5-フェニルヒダントイン	5.7
メフェニトイン	0.7
エトトイン	0.0
メトスクシミド	0.3
フェンスクシミド	0.0
スルチアム	0.1

3. その他

1) 検量用物質には、セディアTDM標準液セットⅡ(当社品)を使用してください。

2) 測定範囲に関する注意

測定範囲を超える検体は、等量の低値標準液で希釈して再測定し、次の式によりフェニトイン濃度を求めます。

フェニトイン濃度＝

希釈再測定濃度×2－低値標準液の濃度

用法・用量(操作法)

1. 試薬の調製法

1) EA試液(R1)：EA試薬にEA試薬溶解液全量を加えて溶解し、EA試液とします。

2) ED試液(R2)：ED試薬にED試薬溶解液全量を加えて溶解し、ED試液とします。

EA試薬、ED試薬共に試液調製後8時間以上静置した後、測定に使用してください。

上記各試液の調製後の安定性は、凍結を避け2～8℃保存で60日間です。

2. 測定(操作)法

本品は各種の自動分析装置に使用されますので、その操作法の一例を示します。

検体 + EA試液 $\xrightarrow[5分]{37℃}$ $2.1\mu L + 89\mu L$

ED試液 $\xrightarrow[237秒\sim 308秒]{37℃}$ 測定 (吸光度*)

濃度計算

*吸光度：660nmと570nmの吸光度差

検量用物質：セディアTDM標準液セットⅡ(当社指示値)

測定結果の判定法

1. 参考基準範囲

フェニトインの治療有効濃度は、成人血清で $10\sim 20\mu\text{g/mL}$ ^{4),6)~10)}、小児血清で $6\sim 14\mu\text{g/mL}$ ⁴⁾であると報告されていますが、患者の臨床所見や他の検査結果と合わせて測定結果を評価してください。

また、統計学的に十分な検体数を用いて、血中のフェニトイン濃度を測定し、各施設でのフェニトインの治療有効濃度を求めることが望ましいです。

参考例として、文献報告されている血清中のフェニトイン濃度を次に示します。

報告者	治療有効濃度 ($\mu\text{g/mL}$)	
	成人	小児
Buchthal and Lennox-Buchthal ³⁾	15~25	
Finn and Olanow ⁴⁾	10~20	6~14
Jusko ⁶⁾	10~20	
Kutt ⁷⁾	10~20	
Buchthal and Svensmark ⁸⁾	10~20	
Sohn and Ferrendelli ⁹⁾	10~25	
Penry and Newmark ¹⁰⁾	10~20	

2. 検体により、検体中の目的成分以外の物質との反応や妨害反応を生じることがあります。測定値や測定結果に疑問がある場合は、再検査や希釈再検査、あるいは他の検査方法により確認してください。

性能

1. 感度

低値標準液を20回同時に測定するとき、測定値の標準偏差の2倍として定義する最小検出濃度は $0.7\mu\text{g/mL}$ 以下である。

2. 正確性 測定期待値の $\pm 20\%$ 以内

3. 同時再現性 変動係数8%以下

(1.~3.までの試験方法は弊社試験方法による)

4. 測定範囲 (7170形日立自動分析装置による)

$0.7\sim 40.0\mu\text{g/mL}$

5. 相関性

血清 $N=118$ $r=0.996$ $y=1.01x+0.25$

対照法：既承認体外診断用医薬品 (CEDIA法)

血漿 $N=93$ $r=0.997$ $y=1.07x-0.48$

対照法：既承認体外診断用医薬品 (酵素免疫法)

6. 較正用標準物質

フェニトイン (米国薬局方)

使用上又は取扱い上の注意*

1. 取扱い上 (危険防止) の注意

- 検体はHIV、HBV、HCV等の感染の恐れがあるものとして取り扱ってください。検査にあたっては感染の危険を避けるため使い捨て手袋を着用し、また口によるピペティングを行わないでください。
- 各構成試薬には、防腐剤としてアジ化ナトリウムが含まれておりますので、誤って目や口に入ったり、皮膚に付着した場合は速やかに水で洗い流す等の応急処置を行い、必要であれば医師の手当てを受けてください。

2. 使用上の注意

- 本品は凍結を避け、貯法に従い保存してください。凍結させた試薬は、品質が劣化して正しい結果が得られないことがありますので使用しないでください。
- 使用期限を過ぎた試薬は、測定値の信頼性を保証し兼ねますので、使用しないでください。
- 試薬を継ぎ足して使用することは避けてください。
- 調製したED試液は橙色～淡赤色です。暗赤色～紫色を呈した場合は汚染された恐れがあるため、使用せずに廃棄してください。
- EA試薬、ED試薬のバイアル瓶の中は陰圧になっていきますので、開栓時、中の試薬を飛散させないように静かに開けてください。
- 他の製造番号のキットの試薬との組合せは絶対に避けてください。
- 測定は直射日光を避けて行ってください。

3. 廃棄上の注意

- 使用済の検体及び検体容器などを廃棄する前に0.1%濃度以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液に1時間以上浸すか、又はオートクレーブ (121℃、20分間) で処理してください。
- 検体又は検体を含む溶液が飛散した場合、感染を防止するため、0.1%濃度以上の次亜塩素酸ナトリウム溶液等でよく拭き取ってください。
- 試薬及び処理した検体などを廃棄する場合には、廃棄物に関する規定に従い、医療廃棄物又は産業廃棄物などと区別して処理してください。
- 試薬の廃棄にあたっては、水質汚濁防止法等の規制に留意してください。
- 各構成試薬には、防腐剤としてアジ化ナトリウムが含まれています。アジ化ナトリウムは鉛管、銅管と反応して爆発性の強い金属アジドを生成することがありますので、廃棄の際は大量の水と共に洗い流してください。

4. その他の注意

容器等は他の目的に転用しないでください。

貯法、有効期間

1. 貯法 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$

2. 有効期間 製造後2年間

(使用期限は外装に記載してあります。)

包装単位

名 称	包 装
セディアー フェニトインⅡ	EA試薬
	18mL用×1
	EA試薬溶解液
	18mL ×1
	ED試薬
	18mL用×1
	ED試薬溶解液
	18mL ×1

主要文献

- 1) Fowler A., and Zabin I. : Amino acid sequence of galactosidase, J. Biol. Chem., **253** : 5521-5525, 1978.
- 2) Henderson D. R., Friedman S. B., Harris J. D., Manning W. B., Zoccoli M. A. : CEDIATM, a new homogeneous immunoassay system, Clin. Chem. **32** (9) : 1637-1641, 1986.
- 3) Buchthal F., Lennox-Buchthal M. A. : Diphenylhydantoin : Relation of anticonvulsant effect to concentration in serum, in Woodbury, D. M., Penry J. K., Schmidt K. P. (eds) : Antiepileptic Drugs, Raven Press, New York, pp. 193-209, 1972.
- 4) Finn A. L., Olanow C. W. : Phenytoin : Therapeutic use and serum concentration monitoring, in Taylor, W. J., Fin, A. L., (eds) : Individualizing Drug Therapy : Practical Application of Drug Monitoring, Vol 2, Gross, Townsend, Frank, Inc., New York, pp. 63-85, 1981.
- 5) Porter R. J., Layzer R. B. : Plasma albumin concentration and diphenylhydantoin binding in man, Arch. Neurol., **32** : 298-303, 1975.
- 6) Jusko W. J. : Bioavailability and disposition kinetics of phenytoin in man, in Kellaway, P., Petersen, I. (eds) : Quantitative Analytic Studies in Epilepsy, Raven Press, New York, pp. 115-136, 1976.
- 7) Kutt H. : Diphenylhydantoin : Relation of plasma levels to clinical control, in Woodbury, D. M., Penry, J. K., Schmidt, K. P., (eds) : Antiepileptic Drugs. Raven Press, New York, pp. 211-218, 1981.
- 8) Buchthal F., Svensmark O. : Serum concentrations of diphenylhydantoin (Phenytoin) and phenobarbital and their relation to therapeutic and toxic effects, Psychiat. Neurol. Neurochir., **74** : 117-136, 1971.
- 9) Sohn R. S., Ferrendelli J. A. : Inhibition of Ca transport into rat brain synaptosomes by Diphenylhydantoin (DPH) , J. Pharmacol. Exp. Ther., **185** : 272-275, 1973.
- 10) Penry J. K., Newmark M. E. : The use of anti-epileptic drugs, Ann. Of Intern. Med., **90** : 207-218, 1979.
- 11) Kutt H., Winters W., Kokenge R., McDowell F. : Diphenylhydantoin, metabolism, blood levels and toxicity, Arch. Neurol., **11** : 642-648, 1964.
- 12) Hyman G. A., Sommers S. C. : The development of Hodgkin's disease and lymphoma during anticonvulsant therapy, Blood, **28** : 416-427, 1966.
- 13) De Vries S. I. : Haematological aspects during treatment with anticonvulsant drugs, Epilepsia, **6** : 1-15, 1965.
- 14) Dent C. E., Richens A., Rowe, D. J. F., Stamp T. C.B. : Osteomalacia with longterm anticonvulsant therapy in epilepsy, Brit. Med. J., **4** : 69-72, 1970.

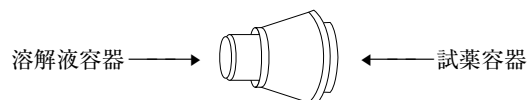
お問い合わせ先*

積水メディカル株式会社 学術担当
電話番号 0120-249-977
FAX番号 0120-247-477

[アダプターの使用方法]

アダプター (試薬①、試薬②調製用 : 3 個)

試薬と試薬溶解液の混合時に下図のように使用してください。



溶解方法

- ①EA試薬容器とEA試薬溶解液容器、又はED試薬容器とED試薬溶解液容器をキット付属のアダプターで結合します。
- ②泡を立てないように穏やかに転倒混和します。
- ③内容物全量が試薬溶解液容器に移ったことを確認し、アダプターと試薬容器を取り外します。
- ④試薬溶解液容器にフタをし、約5分間静置します。

[別売]

セディアTDM標準液セットII

包装

低値標準液	7.5mL × 1
高値標準液	5.0mL × 1

製造販売元*

積水メディカル株式会社
東京都中央区日本橋三丁目13番5号

製造元

Microgenics Corporation
46360 Fremont Boulevard, Fremont, CA 94538